

伝統薬のサステナビリティと標準化を志向した薬用植物・生薬の多様性解析研究

和漢医薬学総合研究所 研究開発部門 資源開発分野 資源科学領域 小松かつ子

1. はじめに

日本では超高齢社会の訪れとともに様々な問題が顕在化している。それに対処すべく、医療においては高齢者疾患及び生活習慣病に代表される多因子性疾患に対する治療法の開発、健康寿命を延伸しかつ医療費を軽減するための保健医療の充実などが求められ、漢方薬や生薬のこれらへの応用が期待されている。ますます重要性を増している生薬ではあるが、地球的規模で出現する異常気象や人為的な自然破壊は生薬の供給源である天然資源の減少をもたらしている。中国でも国土の破壊は深刻で、自生する高等植物約 35,000 種のうち約 3,000 種が絶滅の危機に瀕しているとされる。このことは、漢方医学をはじめとする世界の伝統医学の存続にも係わる問題で、限りある天然薬物資源をいかに効率的かつ永続的に利用するか、さらにどのような基準を設けて栽培へと転換を図っていくのが模索されている。中国では 2000 年のカンゾウとマオウの採取並びに輸出制限から始まった各種規制とともに、薬用植物の栽培化が進められ、現在、中華人民共和国薬典¹⁾ 収載の植物性生薬の約 46%は大規模栽培により賄われているとされる。日本では、漢方製剤、生薬製剤、保健機能食品、いわゆる健康食品などに配合される生薬の約 90%を主として中国から輸入しているため、中国の薬用資源の状況は注視しなければならない。

このような状況下、漢方薬・生薬の永続的利用を可能にする方策を考えると、国家レベルで計画的な薬用植物の採取と保全の管理計画を立てること、アジア全体で生薬の循環型社会を形成するために中国産生薬（漢薬）に匹敵する代替生薬を開発すること、また限りある生薬を品質上の特徴に応じて効率的に利用する方法を見出すことなどが挙げられる。しかし、最終的には薬用植物の栽培化が不可欠であり、このためには栽培すべき薬用植物の選択と効率的栽培方法の確立及び効果的調製加工法の開発が必要である。いずれの場合においても本来の薬効を果たし得る薬用植物を見出し生薬にすることが大前提であり、その基準を定める生薬の標準化とともに行わなければならない。ここで注意すべき点は、野生品に由来する生薬に関しては、厳格な標準化は資源枯渇に繋がることである。以上を鑑み、生薬の多様性を認める範囲を限定しながら生薬の標準化を図り、さらに栽培化への橋渡しを行う生薬・薬用植物の多様性解析研究に着手した。

研究方法としては、生薬の基原植物に分類学上の混乱が見られる場合は、最初に薬用植物の遺伝子多型を調べ、生薬の基原植物を同定するかまたは遺伝子型を決定し、同時に分子系統関係を明らかにする；次に、遺伝的に薬用植物・生薬を整理した上で、成分分析を行い、植物種または系統による特徴、産地間差異及び漢薬との同等性・相違性を明らかにする；さらに可能であれば植物種または系統による薬理学的特徴を明らかにする；という流れで行い、各々の薬用植物または生薬の品質上の特徴を見出すことを目標とした。この結果に基づき、生薬として公定書に収載すべき基原植物、規格等の提案、栽培化に推薦できる植物種または系統の提案、加工調製法の提案などを行った。

本稿では、モンゴル国における防風資源の開発、アジアにおけるウコン類生薬の整理、ブランド芍薬の開発に関する多様性解析研究について紹介する。

2. モンゴル国における防風の資源植物の探索と品質評価

「防風」は、駆風、解熱、消炎薬として、荊芥連翹湯、大防風湯、防風通聖散などに配合される重要な生薬である。中国及び日本で防風の需要が高まった結果、野生資源量が著しく減少し、これに代わって中国の栽培防風が流通するようになったが、希エタノールエキスの含量が高い反面、薬理活性成分のクロモン類などの含量が低いという問題が生じている。そこで、防風の基原植物であるセリ科 *Saposhnikovia divaricata* の資源量が豊富で、国家政策として植物資源の保護と有効利用に力を入れているモンゴル国において、防風の新資源の開発と現地での栽培化に向けた情報の蓄積を目的として、現地調査を実施し、採集した *S. divaricata* の根について含有成分を網羅的に解析した。

1) LC-MS 分析によるメタボロームプロファイリング²⁾

クロモン類を中心に、鎮痛、抗炎症、抗酸化、抗アレルギー作用などが報告されている 17 化合物を防風から単離・同定し、また新規化合物として 3'-O-(6"-O-malonyl)-glucosylhamaudol (**14**)を見出し、これらを標準品として以下の研究に供した。

2015 年及び 2017 年にモンゴル国東部で採集した 43 標本の根及び中国産防風について 70%メタノールエキスを作製し、LC-IT-TOF-MS により成分プロファイリングを行い、クロモン類 13 化合物及びクマリン類 17 化合物を同定または推定した。モンゴル産 *S. divaricata* は中国産防風と同様の成分プロファイルを示し、さらに LC-MS データを多変量解析の判別分析 (OPLS-DA) に供した結果、中国産防風よりジヒドロフロクロモン類の prim-O-glucosylcimifugin (**1**) が高含量であった。モンゴル国内では極東部の Khalkhgol 産の標本で **1**, cimifugin (**2**) 及び 4'-O-β-D-glucosyl-5-O-methylvisamminol (**3**) の含量が高く、また降水量の観点からも同地が栽培地に相応しいと判断した。

2) HPLC-DAD 分析及び¹H NMR 分析による定量³⁾

LC-MS 分析では各成分の含量を相対的に比較したのみであったため、クロモン類 9 化合物及びクマリン類 4 化合物について HPLC-DAD 分析による定量を、2019 年の北東部での採集標本を含めて全 8 箇所の採集品及び中国産防風について行った。全 44 標本が **1** 及び **3** を含有し、その合計含量は 5.04–25.06 mg/g であり、中華人民共和国薬典¹⁾ 規定の防風の基準値 (2.4 mg/g) 以上であった。化合物 **1** 及びジヒドロピラノクロモン類の 3'-O-acetylhamaudol (**7**), ledebouriellol (**8**) 及び 3'-O-angeloylhamaudol (**9**) の含量は中国産防風より有意に高かった。特に北東部の Norovlin 産の標本は **1** 及び **3** を含むジヒドロフロクロモン類の総含量が 12.20–26.80 mg/g で最も高かった。一方、高含量が予想された Khalkhgol 産の標本は 5.59–23.41 mg/g で変動幅が大きかった。ジヒドロピラノクロモン類の総含量は北東部の Bayan-Uul 産が高い傾向を示した。HPLC データを判別分析に供した結果、全標本は産地別に 3 グループに分けられる傾向を示し、その区別にはクロモン類 6 化合物 (**1**, **2**, **3**, **5**, **9**, **14**) が寄与した (図 1)。

¹H NMR スペクトルではショ糖を含む糖質、panaxynol (**15**) を含むポリアセチレン類及びクロモン類 9 化合物が特徴づけられた。モンゴル産標本は中国産防風に比し、ショ糖の含量が低く、ポリアセチレン類をやや多く含む傾向にあった。中国の栽培防風はショ糖の含量に起因する 70%メタノールエキスの含量の増加とそれに伴うクロモン含量の相対的な低下が見られ、畑作での問題点が示された。

以上、モンゴル国に産する *S. divaricata* の根は、抗炎症作用などが報告されている **1** 及び **3**, その他

[illegible]

K(gl)Wtk) にまとめられた。*C. kwangsiensis* に関しては栽培地 (広西壮族自治区) で詳細な調査を行い、栽培植物はすべて K(gl)Wtk タイプの塩基配列を示すものであったが、植物形態は多様であり、圃場には *C. wenyujin* の混生も見られた。さらに根茎の精油成分組成においても個体差が大きいことを確認した⁷⁾。

Curcuma 属生薬についても同様に解析し、同属植物の配列と比較して基原を調べた結果、中国産鬱金 (姜黄) は *C. longa* の根茎、中国産片姜黄は *C. wenyujin* の根茎であった。日本産莪朮は *C. zedoaria* の根茎、日本に広く流通する中国産莪朮のうち四川省産は *C. phaeocaulis* の根茎の単一品であったが、広西壮族自治区産莪朮は *C. kwangsiensis* (gl) の根茎の単一品からなるものは少なく、ほとんどが異なる遺伝子配列タイプをもつ根茎の混合品であった。その中には K(gl)Wtk タイプ、Ptk タイプ及び両配列の 1 または 2 塩基置換、K(pl)Ztk タイプの 1 または 2 塩基置換などの配列が認められた。さらに精油成分分析の結果からも広西壮族自治区産莪朮は均一性を欠いていた⁸⁾。

trnK 遺伝子の塩基配列だけでは *C. kwangsiensis* (gl) と *C. wenyujin* が区別できなかったため、クルクミノイド生合成に関与する酵素遺伝子のイントロン長多型 (ILP) を検討した。*C. longa* の重要な成分であるクルクミノイドはジケタイド CoA 生合成酵素 (DCS) とクルクミノイド生合成酵素 (CURS) が関与して生合成される。また、基質特異性の異なるアイソザイムが存在し、DCS をコードする遺伝子に 2 つ (*DCSI*, 2), CURS をコードする遺伝子に 3 つ (*CURSI*-3) が報告されている。*DCS* と *CURS* には 3 つのイントロン領域 (*DCS* intron I, II; *CURS* intron) が存在することから、これらの領域を挟むエキソン領域に 3 対のプライマーを設計し、これらのイントロン長多型に基づく分類法を検討した。その結果、上記 2 種が明確に区別できるとともに、*C. kwangsiensis* は数種類の ILP パターンを示した。このように、父系遺伝も関与する核遺伝子の *DCS*, *CURS* で多型が認められるという結果からも、*C. kwangsiensis* が交配雑種集団である可能性を示唆している⁹⁾。以上により、クルクミノイドが検出されない植物種においても上記生合成酵素遺伝子イントロン長多型に基づく分類が適応可能であったことから、アジア産 *Curcuma* 属植物に本法を適用した。

2) アジア産 *Curcuma* 属植物の遺伝子多型と生薬の基原¹⁰⁾

日本の薬用植物園等に系統保存されているアジア 7 カ国から導入した *Curcuma* 属植物について形態観察を行い、*C. longa* (L), *C. aromatica* (JA), *C. zedoaria* (Ze), *C. phaeocaulis* (P), *C. aeruginosa* (Ae), *C. wenyujin* (W), *C. kwangsiensis* (gl)(K), *C. zanthorrhiza* (Za), *C. amada* (Am), *C. manga* (M) 及び *C. petiolata* (Pe) を同定または推定し、これに富山大学和漢医薬学総合研究所民族薬物資料館保有の 3 カ国の植物標本及び 7 カ国の生薬標本を加えて材料とした。生薬標本は現地調査及び各国の文献調査の情報から基原植物を推定したところ、上記の種のほかに *C. comosa* (C) が認められ、全 12 種 100 検体を解析した。

クルクミノイド生合成に関与する酵素遺伝子の *DCS* と *CURS* のイントロン長多型解析を行った結果、ILP パターンは各種に固有であり、種内多型がほとんどない種 (JA, Ze, P, Ae, W, Za) と多型性がある種 (L, K, Am, M, C) が認められた。ILP パターンに基づいて構築した樹状図では Pe と C からなるクレード、L のクレード、その他の種からなるクレードに分かれ、後者はさらに 4 サブクレード (JA; Ze, Ae 及び P; W 及び K; Za, Am 及び M) に分かれた (図 2)。L のクレードはさらに 3 サブクレードに分かれ、産地との関連性が推測された。ILP パターンが多型性を示す原因として、L では多様な栽培品種の存在が、Am, M 及び C では K と同様に交配雑種の形成が考えられる。

trnK 遺伝子の塩基配列にはこれまでに述べた 5 タイプの他に、K(pl)Ztk に類似しているが上流から 205 番目から連続するアデニンの数と 502 番目から連続するチミンの数が *Ze* に認められる 6 個と 14 個〔K(pl)Ztk(6A14T)〕ではない K(pl)Ztk(7A15T)タイプと K(pl)Ztk(7A13T)タイプが認められた。Ae, Am 及び M は Ptk タイプ、Za は K(pl)Ztk(6A14T)タイプ、C は K(pl)Ztk(7A15T)タイプであり、Za と C の一部に K(pl)Ztk(7A13T)タイプが認められた。

Curcuma 属生薬の解析結果を、植物の ILP パターン及び *trnK* 配列と比較して基原を検討した結果、文献記載と異なるものが存在し、タイ生薬 Wan nam kum とインド生薬 Kasturi manjal は *C. aromatica* ではなく *Za* であると同定し、タイ生薬 Kamin oi は *C. zedoaria* ではなく K(pl)Ztk(7A13T)タイプの配列を持つ種と L との交配種由来である可能性が示唆された。さらに日本産ガジュツはインドネシアやインドの *C. zedoaria* と関連性があることが示された。

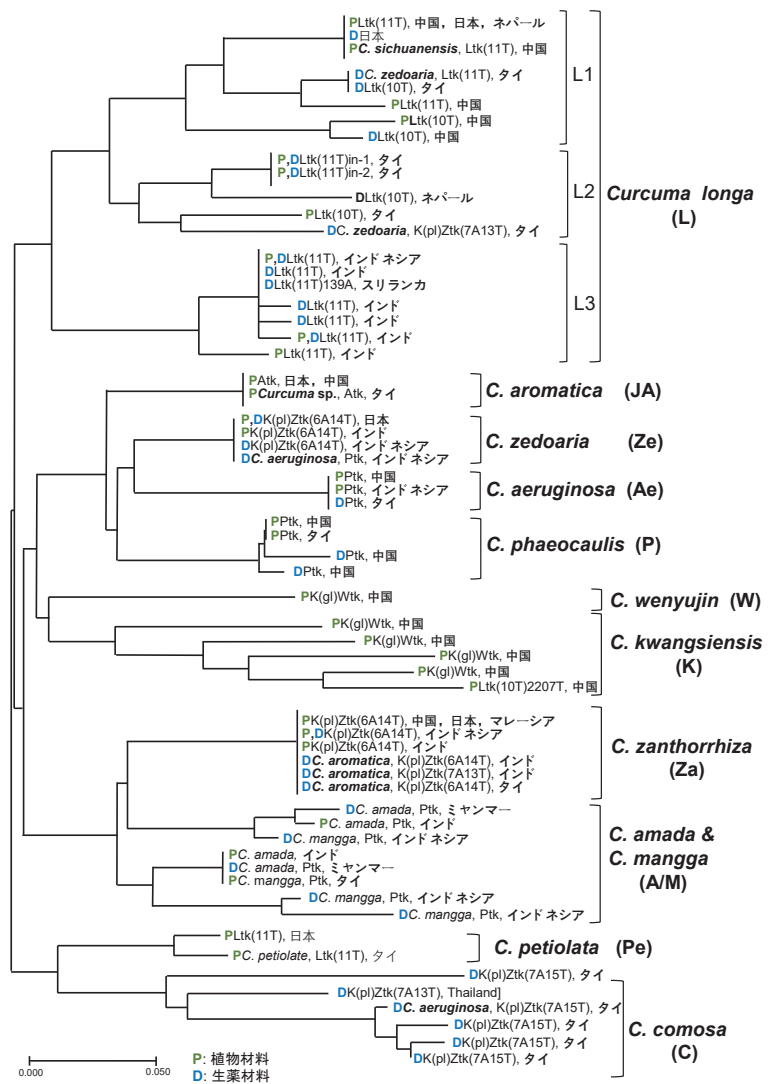


図 2. *Curcuma* 属植物の DSC 及び CURS イントロン長多型に基づく樹状図 (NJ 法)

3) アジア産 *Curcuma* 属植物の根茎と生薬の精油成分組成

ILP パターン及び *trnK* 配列の解析から客観的に同定した植物 11 種の根茎の乾燥品及び生薬の粉末を低極性のファイバーを用いて固相マイクロ抽出し、GC-MS で分析した。含有される精油成分について、化合物の保持時間及び MS データを NIST ライブラリーと照合することにより検討した結果、約 60 種類を同定できた。*Curcuma* 属植物は各種に特徴的な成分組成を示し、大きく 7 タイプ (L ; Ze, P 及び Ae ; Za ; JA 及び W ; K ; Am 及び M ; C) に分けられ、それぞれ bisabolane 型 ; curzerene 型・germacrane 型・guaiane 型 ; bisabolane 型・germacrane 型・curzerene 型 ; germacrane 型・curzerene 型 ; curzerene 型・germacrane 型 ; caryophyllane 型 ; santalene 型・bisabolane 型のセスキテルペノイドを含有した。なお、生合成酵素遺伝子の ILP パターンに多型性がある種では基本的組成は一致するものの変動が見られたが、原産地国による違いは少なかった。各タイプが示す成分パターンは、生合成酵素遺伝子の ILP パターン及び *trnK* 配列が一致する生薬であれば、植物とほぼ同様であった。さらに、遺伝子解析で交配が示唆された生薬については、両親の植物種を反映したと思われる精油成分組成を示した。

クルクミノイド生合成に関与する酵素遺伝子の ILP パターン及び *trnK* 配列に、精油成分パターンの情報を加えることにより、*Curcuma* 属植物・生薬の同定が確実にできるのみならず、交配種であれば両親の植物種が推定可能となり、植物分類並びにアジアの同属生薬の学名の整理に有用であると考えられる。このように *Curcuma* 属生薬の標準化に寄与するであろう成果が得られた。

4) *Curcuma* 属生薬のクルクミノイド含量

C. longa の根茎にはジアリルヘプタノイドに属するクルクミノイドと総称されるクルクミン、デメトキシクルクミン及びビスデメトキシクルクミンが含有される。これまでに報告された薬理作用によると、抗がん活性はデメトキシ体が他の 2 成分より強く¹¹⁾、抗腫瘍転移活性はデメトキシ体とビスデメトキシ体がクルクミンよりも強く¹²⁾、一方、抗炎症活性はクルクミン、デメトキシ体、ビスデメトキシ体の順である¹³⁾とされており、医薬品としての「ウコン」の薬効を考える上では 3 成分はともに重要である。日本、中国、インド及びタイ市場に流通している *C. longa* 由来生薬について HPLC 法でクルクミノイド 3 成分を定量した結果、総含量はそれぞれ 0.24~3.64%、0.56~4.47%、2.02~4.08%及び 3.28~4.92%であり、その内クルクミンが 54~72%を占めた。その他の生薬では *C. aromatica* (JA)由来のハルウコンが約 0.1%、*C. zanthorrhiza* 由来のインド産 *Kasturi manjal* とインドネシア産 *Temu lawak* がそれぞれが約 1.0%、約 0.5%のクルクミノイドを含有し、これらの生薬でもクルクミンが主であった。一方、遺伝子解析の結果、文献記載の *C. zedoaria* 由来ではなく、K(pl)Ztk(7A13T)タイプの配列を持つ種と *C. longa* との交配種由来と考えられたタイ産 *Kamin oi* は 1.2~2.0%のクルクミノイドを含有し、デメトキシ体がクルクミンより多く含まれていた⁸⁾。この研究結果などを受けて日本薬局方でも「ウコン」のクルクミノイドの定量が検討された。標準品として定量用クルクミンのみを使用して総クルクミノイドの量を求める方法を提案し、15 局第 2 追補から本定量法が収載され、含量規格として「本品は換算した生薬の乾燥物に対し、総クルクミノイド含量 1.0~5.0%を含む」こととされた。さらに確認試験に、*C. longa* 以外の同属生薬の使用を防ぐための規定が設けられている^{14, 4)}。

5) 中国産 *Curcuma* 属生薬の薬理作用の比較

中国では *Curcuma* 属生薬は駆瘀血薬とされることから、1)で基原を明らかにした 5 種類の生薬についてラット胸部大動脈リング状標本を用いた血管作動性の検討を行い、すべてのメタノール及び熱水抽出エキスに NO 非依存性血管弛緩作用があり、さらに *C. zedoaria* 由来の日本産莪朮の熱水抽出エキス（多糖類画分）のみに NO 依存性血管弛緩作用があることを見出した¹⁵⁾。一方、瘀血病態には炎症も関与していると考えられることから、アジュバント関節炎モデルマウスを用いて *C. aromatica* (JA)を加えた 6 種類の生薬の抗炎症作用を比較した。*C. phaeocaulis* 由来四川省産莪朮のメタノールエキスは後肢の腫脹と血清中の炎症マーカータンパク質 *haptoglobin* の増加を有意に抑制し、また *in vitro* 実験において COX-2 活性の有意な抑制作用を示した¹⁶⁾。LC-MS 分析によるクロマトグラムと COX-2 阻害活性から主成分回帰分析を行い、活性成分として *furandienone* と *curcumenol* を同定した。これらのうち *furandienone* は COX-2 阻害活性が強く (IC₅₀ 値 4.6 μM) また選択性も高かった (SI 値 11.7) ことから、莪朮を評価する際の指標成分の一つになるものと考えられる¹⁷⁾。

以上から、莪朮としては遺伝的にも成分的にも安定し、駆瘀血作用が期待できる *C. zedoaria* と *C.*

*phaeocaulis*に由来する莖朮の使用が望ましい。ただし、アジュバント関節炎モデルマウスの実験で*C. kwangsiensis*のエキスを炎症前投与でhaptoglobinの増加を有意に抑制したことから、安定性確保を前提として、日本市場の主流品である*C. kwangsiensis*の使用も考慮することができる。これらの研究成果等の基盤のもとで局方「ガジュツ」の基原植物が17局第2追補で改訂され、従来の*C. zedoaria*に*C. phaeocaulis*と*C. kwangsiensis*が追加された¹⁴⁾。

局方収載の医薬品「ウコン」や「ガジュツ」は現在中国産の *Curcuma* 属植物がその供給源であるが、一連の研究により、他のアジア産同属植物も使用できる可能性がある。保健機能食品等の原材料も含め、多様性解析研究で明らかになった種固有の DCS, CURS の ILP パターン及び成分組成は、それらを原料として使用する際の指標になるものと考えられる。

4. シャクヤク *Paeonia lactiflora* の多様性の解析と「富山ブランド芍薬」の作出に関する研究

芍薬はボタン科の *Paeonia lactiflora* (シャクヤク)の根を基原とする生薬で、日本では中国からの輸入品と少量の日本産芍薬（全体の 1.2%）を鎮痛、鎮痙、収斂薬として漢方処方に配合して使用する。一方、中国では芍薬に「白芍」と「赤芍」の別があり、白芍は日本と同様の用途で用い、赤芍は活血化瘀薬として婦人科疾患などに応用する。白芍は*P. lactiflora* の根を湯通しした後に外皮を除去したもの又は外皮を除去した後湯通しして乾燥したものであり、赤芍は*P. lactiflora* または*P. veitchii* の根の乾燥品であると規定されている¹⁾が、*P. veitchii* は資源量が限られるため、ほとんど市場性がない。したがって、同一種に由来する白芍と赤芍をどのように区別するかは長い間の懸案であった。さらに日本では*P. lactiflora* の薬用品種他、多くの園芸品種が栽培されており、それらの一部が生薬に加工されるが、その品質は不明であった。そこで、先ず中国産の白芍と赤芍、日本産芍薬の分類学上の異同を明らかにする目的で、上記2種と*P. anomala*, *P. japonica* 及び日本と中国の芍薬類市場品を材料にして遺伝的・成分的多様性を解析した。次に富山県薬用植物指導センターと共同で、同センターが保有する園芸用及び薬用の約 100 品種についても同様の解析を行った。その後、付加価値のある品種を選抜して、「富山ブランド芍薬」を開発するための検討を行った。

1) *Paeonia* 属植物及び芍薬類の遺伝的多様性

Paeonia 属 4 種の核遺伝子の Internal transcribed spacer (ITS) 領域の塩基配列を解析した結果、ITS1-5.8S-ITS2 領域は長さ 653 bp で、各領域はそれぞれ 267 bp, 164 bp, 222 bp であった。全ての植物及び生薬材料の塩基配列に基づいて ClustalW 法を用いて系統樹を作成した結果、*P. lactiflora* は 1 つのグループを形成し、他の 3 種から明確に区別された。*P. lactiflora* のグループはさらに 2 つのサブグループに分けられ、

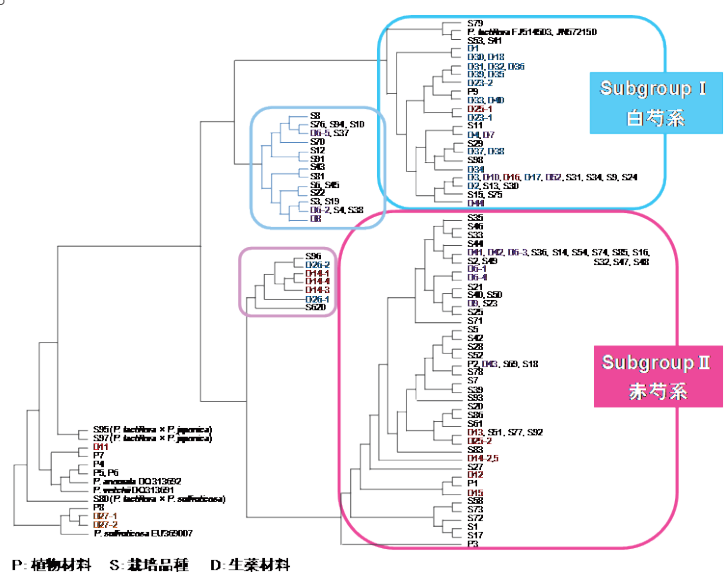


図 3. ITS 配列の類似度に基づくクラスター解析

その内の1つに中国南部で栽培されている *P. lactiflora* と中国市場の白芍が属し（白芍系と称す）、残りの1つに中国北部及びモンゴルに自生する *P. lactiflora* と中国市場のほとんどの赤芍が属した（赤芍系と称す）¹⁸⁾（図3）。赤芍の内、四川省産1検体のみ *P. veitchii* 由来であった。国際塩基配列データベースには2タイプのITS配列が登録されており、それらは上流から69番目、458番目及び523番目の塩基で区別されることから、これらの3箇所の塩基に着目すると、白芍系に属する検体はチミン(T)-アデニン(A)-Tの配列を示し、赤芍系に属する検体はヘテロ型塩基であるY(T&C)-M(A&C)-Yの配列を示した。日本で開発された薬用品種の梵天と北宰相及び生薬の大和芍薬3検体は白芍系に、一方、大和芍薬2検体及び新潟県産芍薬などは赤芍系の配列を示した。園芸品種の多くは赤芍系の配列を示したことから、後者の生薬は園芸品種由来である可能性が示唆された。

2) *Paeonia* 属植物及び芍薬類の成分的多様性

薬効に関与する成分を含む8成分

〔paeoniflorin (PF), albiflorin (AF), pentagalloyl glucose (PGG), (+)-catechin (CC), paeonol (PN), gallic acid (GA), methylgallate (MG), benzoic acid (BA)〕をHPLCで定量した結果、*P. lactiflora* 基原とする生薬では赤芍がPF含量、PN含量ともに白芍より高く、反対にAF含量は低かった¹⁸⁾（図4）。さらに、中国市場の白芍では古来の加工法である硫黄燻製を行うことにより paeoniflorin sulphonate (PFS) が生成し、これによりPF含量が低下し、局方基準の2.0%に満たないものが認められた。ただし、日本市場の中

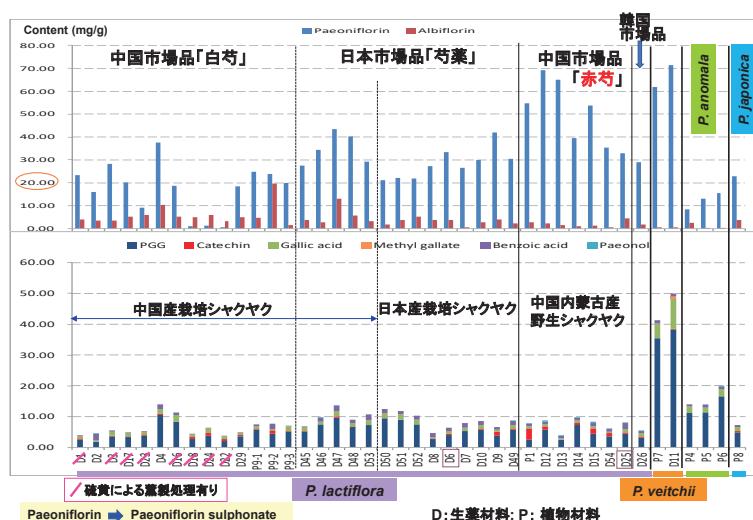


図4. 芍薬類市場品と *Paeonia* 属植物の根の8成分の含量

国産芍薬ではPFSは検出されなかった。そこで、PFSが検出された検体を除き、*Paeonia* 属4種と生薬の6成分（MG, BA以外）の定量データを用いて主成分分析を行った結果、*P. lactiflora* 基原の生薬は赤芍からなるグループと、白芍（日本市場の中国産芍薬を含む）及び大多数の日本産芍薬からなるグループに分かれた。また、*P. veitchii* と *P. anomala* はそれぞれグループを形成した。以上から、白芍と赤芍は遺伝的にも成分的にも、さらに地理的にも区別できることがわかった。

さらにLC-ESI-IT-TOF-MSによりモノテルペノイドのプロファイル解析を行いピーク同定と15成分の定量を行ったところ、新規化合物のpaeoniflorol及び既知のPF-タイプのモノテルペノイド化合物(PF, salicylpaeoniflorin, mudanpioside C, mudanpioside J等)の含量が赤芍で高いことが判明した¹⁹⁾（図5）。一方AF-タイプのモノテルペノイド(AF, 4-epi-albiflorin, paeonivayin)の含量は低かった。その他の種では *P. veitchii* 及び同種を基原とする赤芍でPF, salicylpaeoniflorin, galloylpaeoniflorin及びPGGが高含量であった。園芸品種では検討した約80%の品種が局方¹⁴⁾規定のPF含量2.0%以上であった。また8成分の含量では、ITS配列で分けられた白芍系品種と赤芍系品種の間に、生薬の白芍と赤芍に見られたよ

うな成分的差異は認められなかった。

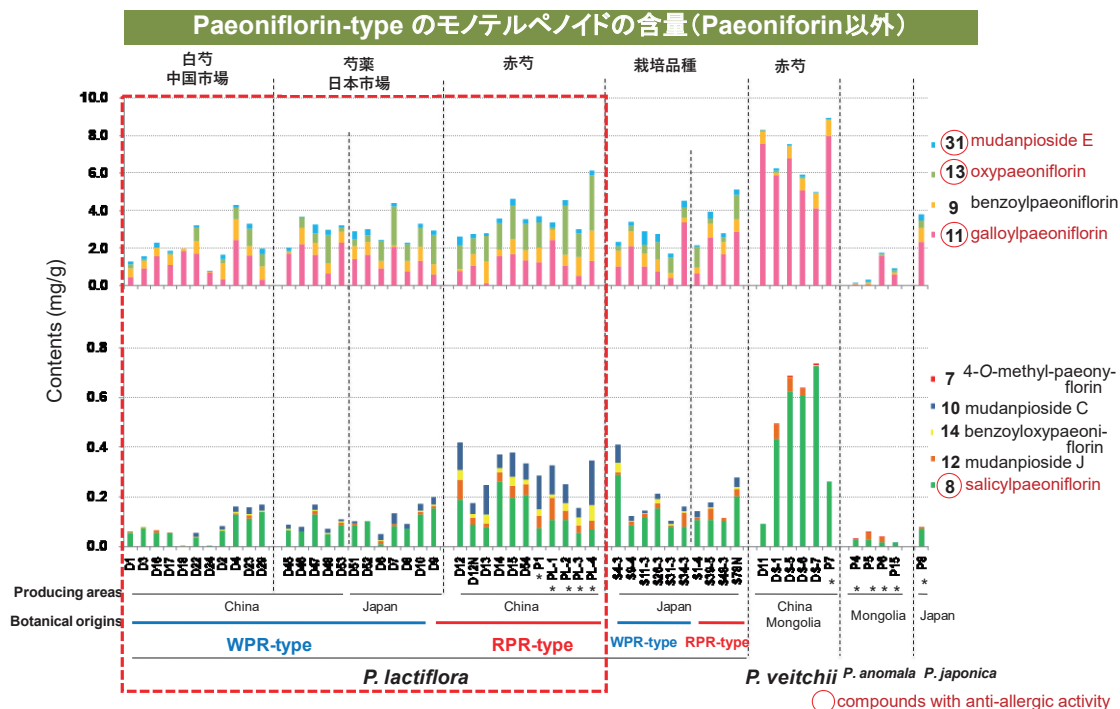


図 5. 芍薬類及びその関連 *Paeonia* 属植物に含まれるモノテルペノイド 15 成分の定量

3) 芍薬類及び園芸品種の抗アレルギー作用と活性成分

赤芍，日本産芍薬及び園芸用 17 品種の熱水抽出エキスについて RBL-2H3 細胞を用いて抗原刺激脱顆粒抑制作用を検討した結果，赤芍及び遺伝的に赤芍系に属する 2 品種（A，B）に抗原刺激脱顆粒抑制作用が認められた。赤芍では新規 3 化合物を含むモノテルペノイド 17 化合物，フラボノイド 5 化合物及びその他 7 化合物を単離し，その内 paeoniflorol, salicylpaeoniflorin, galloylpaeoniflorin, PGJ 及び MG が²⁰⁾，また品種 B（エジュリスパーバ）では新規ノルネオリグナンの paeonibenzofuran 他，モノテルペノイド，フラボノイド等 25 化合物を単離同定し，その内 mudanpioside E, quercetin とその配糖体がそれぞれ中程度の抗原刺激脱顆粒抑制作用を示すことが明らかになった²¹⁾。

4) 富山ブランド芍薬の開発—園芸品種の選抜と加工調製法の確立

富山県では白芍系の薬用品種「梵天」が栽培されていることから，これとは異なる赤芍系園芸品種で付加価値のあるものを選抜する目的で，まず PFS が検出された検体を除いて，*Paeonia* 属 4 種と生薬，及び園芸用・薬用品種の 6 成分の定量データを用いて主成分分析を行い，赤芍と同じグループに属する赤芍系品種を 3 品種選抜した。これらの内 2 品種（A，B）に抗アレルギー作用が認められたことから，これらをブランド芍薬候補とした。

次に，*P. lactiflora* の品種について高品質を保つための加工調製法を開発する目的で，様々な貯蔵・加工・乾燥法を検討した。材料として「梵天」，品種 A（春の粧）及び品種 B の栽培 4 年目以降の新鮮な根を用いて，15 通りまたは 8 通りの加工調製法を行い，主要 8 成分の含量の変動を調べた（図 6）。

その結果、新鮮な根を低温貯蔵することにより PF 含量が安定すること、加えて湯通し処理を行うことにより PGG 及び GA（梵天では MG を含む）の含量が顕著に増加することを明らかにした²²⁾。さらに PGG の含量は、低温貯蔵した根を湯通し処理したものでは周皮を付けたまま乾燥した方が周皮を除いてから乾燥したものより、また室温での自然乾燥より 30℃で乾燥した方がやや高い傾向を示した。一方、品種 B に存在した PN は湯通し処理により消失した。AF 含量は周皮を除くことによりわずかに減少する傾向がみられた。CC については低温貯蔵したものでは加工調製法による含量の変化がほとんど認められなかった。以上の結果から、PF、AF、PGG、GA 及び MG に着目するのであれば、新鮮な根を低温貯蔵し、水洗後湯通しして、周皮を付けたまま 30℃で乾燥する方法が適している。ただし、PGG ではなく精油成分の

PN に着目するのであれば、湯通し処理は避けた方がよい。なお、3 品種の比較では、PF と AF の含量は、品種 B > 品種 A > 梵天の順であり、CC 含量は品種 A > 品種 B > 梵天の順であった。PGG 含量はほぼ同様であったが、梵天には MG が、また品種 B には PN が存在した。以上により選抜した品種の成分特性が明確になった。

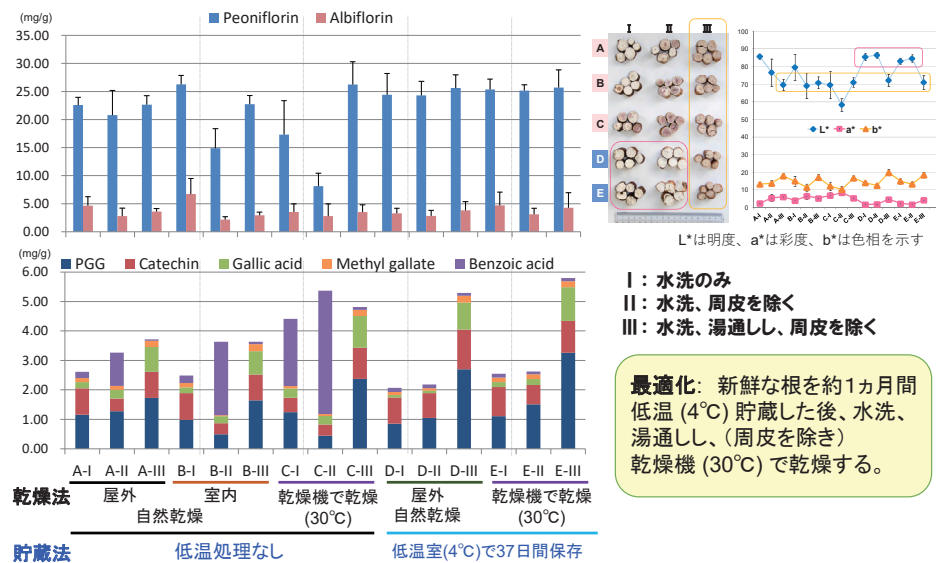


図 6. 15 通りの加工調製法を行った梵天の根の 7 成分の含量

品種 A については上記の加工調製法を某企業に依頼し、日局「シャクヤク」（富山芍薬）に仕上げていただき、それを用いた臨床研究を共同研究者に実施していただいた。富山芍薬含有芍薬甘草湯（富山芍甘）の腓返り及び月経痛に対する効果をそれぞれ対象者を別にして、一般市場品芍薬含有芍薬甘草湯（一般芍甘）と比較したところ、一般芍甘との間に有意差は認められなかったものの、服薬期間における腓返り平均発生回数の有意な減少、また月経痛自覚日数の有意な減少、さらに自覚的有用度では富山芍甘が有用であるとする被験者が多くみられたとのことであった。このように富山芍薬の安全性・有用性が臨床において確かめられたことから、現在富山県では農水部・厚生部の施策のもと、農家での栽培が推進されている。

以上、3 課題で生薬の持続的利用（SDGs）と標準化を志向した多様性解析研究の成果を紹介した。生薬の SDGs に必要なことは、科学的根拠に基づいた多様性の容認である。公定書では医薬品として守らなければならない最低限の基準を提示して生薬の標準化を達成している。この基準は、ある程度の余裕をもって決められているので、きめ細かな医療を実現するためには、個々の生薬の特徴を科学的かつ的確に捉えて、目的に応じた選択を可能とするといった自主規格による標準化が望まれる。標準化と同時

に持続可能性を実現する最良の手段が生薬の資源植物の栽培化である。日本国内で栽培が可能な資源植物はさらに栽培を拡充し、一方国内での栽培が難しい生薬についてはアジア各国での栽培化に協力するといった体制ができることを希望する。また、これを実現する上では生薬とその資源植物の多様性解析研究が必要であり、多くの生薬について行われることを切望する。

謝辞

本研究は、朱 姝助教、當銘一文准教授をはじめとする多くの国内共同研究者、学生諸氏、海外共同研究者の努力によって得られた成果であり、ここに厚く感謝申し上げます。また、JSPS 科研費 JP14406030, JP17406004, JP21406004, JP24406005, JP15H05268 及び JP18K06714, 文部科学省地域イノベーション・クラスタープログラム「ほくりく健康創造クラスター」広域化プログラム、平成24年度厚労科研費・創薬基盤推進研究事業、平成28年度AMED創薬基盤推進研究事業（JP17ak0101046h0002）、富山県受託研究「和漢薬・バイオテクノロジー研究」、富山大学運営費交付金機能強化費などの助成を受けて行われました。ここに記して感謝の意を表します。

引用文献

1. 国家薬典委員会編、『中華人民共和国薬典』, 2020 年版 一部, 中国医薬科技出版社, 北京, 2020, p. 156 (防風), 276 (姜黄), 286-287 (莪朮), 76 (片姜黄), 108 (白芍), 165-166 (赤芍).
2. Batsukh Z., Toume K., Javzan B., Kazuma K., Cai S.Q., Hayashi S., Kawahara N., Maruyama T., Komatsu K.: Metabolomic profiling of *Saposhnikovia* Radix from Mongolia by LC-IT-TOF-MS/MS and multivariate statistical analysis. *J. Nat. Med.*, 74: 170-188, 2020.
3. Batsukh Z., Toume K., Javzan B., Kazuma K., Cai S.Q., Hayashi S., Atsumi T., Yoshitomi T., Uchiyama N., Maruyama T., Kawahara N., Komatsu K.: Characterization of metabolites in *Saposhnikovia divaricata* root from Mongolia. *J. Nat. Med.*, 75: 11-27, 2021.
4. 小松かつ子, 喜田智子: ウコン, 薬用 *Curcuma* 属植物及びウコン類生薬, *Foods & food ingredients journal of Japan*, 220: 298-308, 2015.
5. Cao H., Sasaki Y., Fushimi H., Komatsu K.: Molecular analysis of medicinally-used Chinese and Japanese *Curcuma* based on 18S rRNA gene and *trnK* gene sequences. *Biol. Pharm. Bull.*, 24: 1389-1394, 2001.
6. Sasaki Y., Fushimi H., Cao H., Cai S.Q., Komatsu K.: Sequence analysis of Chinese and Japanese *Curcuma* drugs on the 18S rRNA gene and *trnK* gene and the application of amplification-refractory mutation system analysis for their authentication. *Biol. Pharm. Bull.*, 25: 1593-1599, 2002.
7. Komatsu K., Sasaki Y., Tanaka K., Kuba Y., Fushimi H., Cai S.Q.: Morphological, genetic and chemical polymorphism of *Curcuma kwangsiensis*. *J. Nat. Med.*, 62: 413-422, 2008.
8. 小松かつ子, 佐々木陽平, 東田千尋, 田中謙, ウコン類生薬の基原と品質, *Foods & food ingredients journal of Japan*, 212: 345-356, 2007.
9. Kita T., Komatsu K., Zhu S., Iida O., Sugimura K., Kawahara N., Taguchi H., Masamura N., Cai S.Q.: Development of intron length polymorphism markers in genes encoding diketide-CoA synthase and curcumin synthase for discriminating *Curcuma* species. *Food Chem.*, 194: 1329-1336, 2016.

10. Liu Q.D., Zhu S., Hayashi S., Iida O., Takano A., Miyake K., Sukrong S., Agil M., Balachandra I., Nakamura N., Kawahara N., Komatsu K.: Discrimination of *Curcuma* species from Asia using intron length polymorphism markers in genes encoding diketide-CoA synthase and curcumin synthase. *J. Nat. Med.*, 2021.
11. Simon A., Allais D.P., Duroux J.L., Basly J.P., Fontanier S.D., Delage C.: Inhibitory effect of curcuminoids on MCF-7 cell proliferation and structure-activity relationships. *Cancer Lett.*, 129: 111-116, 1998.
12. Yodkeeree S., Chaiwangyen W., Garbisa S., Limtrakul P.: Curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin differentially inhibit cancer cell invasion through the down-regulation of MMPs and uPA. *J. Nutrit. Biochem.*, 20: 87-95, 2009.
13. Sandur S.K., Pandey M.K., Sung B., Ahn K.S., Murakami A., Sethi G., Limtrakul P., Badmaev V., Aggarwal B.B.: Curcumin, demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin, tetrahydrocurcumin and turmerones differentially regulate anti-inflammatory and anti-proliferative responses through a ROS-independent mechanism. *Carcinogenesis*, 28: 1765-1773, 2007.
14. 厚生労働省編, 『第十八改正日本薬局方』, 東京, 2021, p. 2048 (ボウフウ), 1869-1870 (ウコン), 1892 (ガジュツ), 1956-1957 (シャクヤク).
15. Sasaki Y., Goto H., Tohda C., Hatanaka F., Shibahara N., Shimada Y., Terasawa K., Komatsu K.: Effects of *Curcuma* drugs on vasomotion in isolated rat aorta. *Biol. Pharm. Bull.*, 26: 1135-1143, 2003.
16. Tohda C., Nakayama N., Hatanaka F., Komatsu K.: Comparison of anti-inflammatory activities of six *Curcuma* rhizomes: a possible curcuminoid-independent pathway mediated by *Curcuma phaeocaulis* extract. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, 3: 255-260, 2006.
17. Tanaka K., Kuba Y., Ina A., Watanabe H., Komatsu K.: Prediction of cyclooxygenase inhibitory activity of *Curcuma* Rhizome from chromatograms by multivariate analysis. *Chem. Pharm. Bull.*, 56: 936-940, 2008.
18. Zhu S., Yu X.L., Wu Y.Q., Shiraishi F., Kawahara N., Komatsu K.: Genetic and chemical characterization of white and red peony root derived from *Paeonia lactiflora*, *J. Nat. Med.*, 69: 35-45, 2015.
19. Shi Y.H., Zhu S., Toume K., Wang Z., Batkhuu J., Komatsu K.: Characterization and quantification of monoterpenoids in different types of peony root and the related *Paeonia* species by liquid chromatography coupled with ion trap and time-of-flight mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 129: 581-592, 2016.
20. Shi Y.H., Zhu S., Ge Y.W., He Y.M., Kazuma K., Wang Z.T., Yoshimatsu K., Komatsu K.: Monoterpene derivatives with anti-allergic activity from red peony root, the root of *Paeonia lactiflora*. *Fitoterapia*, 108: 55-61, 2016.
21. Shi Y.H., Zhu S., Tamura T., Kadowaki M., Wang Z.T., Yoshimatsu K., Komatsu K.: Chemical constituents with anti-allergic activity from the root of *Edulis Superba*, a horticultural cultivar of *Paeonia lactiflora*. *J. Nat. Med.*, 70: 234-240, 2016.
22. Zhu S., Shirakawa A., Shi Y.H., Yu X., Tamura T., Shibahara N., Yoshimatsu K., Komatsu K.: Impact of different post-harvest processing methods on the chemical compositions of peony root. *J. Nat. Med.*, 72: 757-767, 2018.